

Exclusivamente para uso veterinario
Servicio técnico y Servicio al cliente 1-800-822-2947

Mayo 2006
PN: 500-7118, Rev. C
© 2002, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo VetScan para T4/colesterol utilizado con el analizador de sangre entera VetScan emplea reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de tiroxina (T₄) y colesterol en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

2. Resumen y explicación de las pruebas

Tiroxina (T₄)

La tiroxina es una hormona sintetizada en la glándula tiroidea y secretada por ésta. La forma principal de secreción de la hormona tiroidea es la tetrayodotironina (T₄), aunque también se secreta algo de triyodotironina (T₃) en la sangre. La relación de T₄ a T₃ es de 25:1 en plasma canino. Una vez en la sangre, T₄ y T₃ quedan fijadas por medio de proteínas de transporte. La principal proteína de fijación es la globulina de fijación de tiroxina (TBG) en el perro y la albúmina en el gato. En el momento del suministro a la célula objetivo, T₄ se desioniza a T₃ en la superficie celular. T₃ es la forma biológicamente activa de la hormona tiroidea e ingresa con mayor facilidad a la célula objetivo.

La hormona tiroidea tiene muchos efectos en el cuerpo, que incluyen aquellos clínicos, fisiológico, calorigénico, metabólico (carbohidratos, proteínas y lípidos), de desarrollo, reproductivos y hematológicos. Las determinaciones de T₄ ayudan en el diagnóstico de hipotiroidismo e hipertiroidismo, y en el control de las terapias con levotiroxina sódica y tiamazol.

Las señales clínicas de niveles anormales de T₄ con frecuencia son vagas. Las señales observables más comunes de hipotiroidismo canino son cambios en la piel y en el manto, tales como alopecia o un manto seco y opaco. Otras señales en los perros incluyen letargo, intolerancia al ejercicio, debilidad, atrofia muscular, depósitos corneales de lípidos y diarrea. Las señales clínicas de hipotiroidismo felino incluyen letargo y obesidad (especialmente en el caso de hipotiroidismo yatrogénico), alopecia, epilación del pelo y bradicardia.

Las señales más prevalentes de hipertiroidismo felino son pérdida de peso y polifagia. Otras señales comunes son inquietud, taquicardia, poliuria-polidipsia, alopecia y diarrea.

Colesterol

El colesterol es un precursor principal del éster del colesterol, ácidos biliares y hormonas esteroideas, y es un componente de las membranas plasmáticas. La tasa de la biosíntesis del colesterol en el hígado es indirectamente proporcional al insumo dietario. Los niveles de colesterol en el cuerpo son controlados indirectamente por la hormona tiroidea, que estimula la producción de ácido biliar. Dado que los ácidos biliares son sintetizados a partir del colesterol, las concentraciones de colesterol varían inversamente con la actividad de la hormona tiroidea.

Pueden usarse niveles de colesterol para ayudar en la detección de hiperlipidemia o como prueba de detección para hipotiroidismo e hiperadrenocorticismos. Los resultados de colesterol son de mayor utilidad cuando se los analiza conjuntamente con otras pruebas químicas clínicas.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principios del procedimiento

Tiroxina (T₄)

El primer método directo clínicamente factible de medición de la tiroxina fue un ensayo de fijación de proteínas competitivas (CPBA) desarrollado por Murphy y Pattee a principios de la década de 1960¹. Las técnicas de los radioinmunoensayos, con su mayor sensibilidad y especificidad, reemplazaron en gran medida al CPBA². Las preocupaciones con respecto a los desechos radiactivos y los potenciales peligros para la salud ayudaron a promover el desarrollo de pruebas no isotópicas, tales como los inmunoensayos con enzimas y por fluorescencia. Los inmunoensayos con enzimas (EIA) para la tiroxina han demostrado tener, a niveles clínicamente importantes, una exactitud y precisión equivalentes a los procedimientos RIA automáticos³. Se ha propuesto un procedimiento espectrométrico de masa por dilución de isótopos como método de referencia, pero éste es muy complicado y elaborado⁴.

Abaxis ha adaptado un método EIA comercialmente disponible para uso en el analizador de sangre entera VetScan. En la reacción, el ácido 8-anilino-1-naftalén sulfónico (ANS) causa la liberación de T₄ endógena de las proteínas de fijación. La T₄ endógena liberada compite para sitios de fijación de anticuerpos (Ab) con la T₄ marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (conjugado G6PDH-T₄). El conjugado G6PDH-T₄ fijado a un anticuerpo tiene una menor actividad que el conjugado no fijado. A medida que aumenta la fijación de la T₄ endógena, aumenta también la cantidad de conjugado de enzima sin fijar. La enzima activa reduce la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.

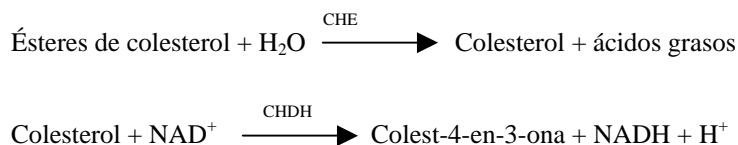


El índice de cambio de la absorbancia a 340 nm se debe a la conversión de NAD⁺ en NADH y es directamente proporcional a la cantidad de T₄ endógena en la muestra.

Colesterol

Las pruebas más comunes emplean reacciones enzimáticas de punto final. Típicamente, estos procedimientos sencillos usan colesterol esterasa y colesterol oxidasa con un acabado de Trinder^{5,6}. Abaxis desarrolló un método enzimático que usa colesterol deshidrogenasa en lugar de la colesterol oxidasa. El uso de la colesterol deshidrogenasa elimina la reacción de Trinder, evitando así la interferencia de los sustratos fisiológicos como la bilirrubina y la hemoglobina.

La colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol y H₂O para formar colesterol y ácidos grasos. El colesterol es oxidado por colesterol deshidrogenasa a colesteno y la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) se reduce a NADH.



La absorbancia se mide bicromáticamente a 340 nm y 405 nm. También se mide una muestra de referencia dedicada a asegurar que las reacciones secundarias no interfieren con los cálculos de los niveles de colesterol. La producción de NADH en esta reacción de punto final es directamente proporcional a la cantidad de colesterol en la muestra.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico VetScan para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada rotor reactivo T4/colesterol VetScan contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Se incluye en cada rotor reactivo un reactivo seco de muestra de referencia (que consta de amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizadores) para usar en el cálculo de los índices de la muestra. Cada rotor reactivo contiene también un disolvente formado por surfactantes, ANS, anticuerpos a T₄ y estabilizadores.

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un rotor con un envase de diluyente abierto. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el rotor antes de cerrar el cajón.
- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un rotor reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.
- El reactivo en soporte sólido y el diluyente contienen compuestos nitrogenados sódicos que pueden reaccionar con plomo y cobre para formar compuestos nitrogenados metálicos muy explosivos. Los reactivos no entrarán en contacto con el plomo y cobre si se siguen los procedimientos recomendados. Sin embargo, si los reactivos entran en contacto con los metales, se debe lavar abundantemente con agua para prevenir la acumulación de azida.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los rotores reactivos pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. Abra la bolsa de cierre hermético y saque el rotor, teniendo cuidado de no tocar el anillo del código de barras situado en la parte superior del rotor reactivo. Utilice de acuerdo con las instrucciones provistas en el Manual del usuario del sistema VetScan. Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa. Los rotores dentro de bolsas abiertas no pueden volver a colocarse en el refrigerador para uso en otro momento.

Almacenamiento

Almacene rotores reactivos en sus bolsas selladas a 2-8°C (36-46°F). No exponga los rotores abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). No permita que los rotores sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 24 horas antes del uso. Abra la bolsa y retire el rotor inmediatamente antes de usarlo.

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

- Todos los reactivos contenidos en el rotor reactivo, cuando se almacena tal como se describe más arriba, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa del rotor. **No** utilice un rotor después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador de sangre entera VetScan.
- Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del sistema VetScan para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Obtención y preparación de las muestras

El tamaño mínimo necesario para la muestra es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o suero de control. La cámara de muestra del rotor reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- La muestra recogida en una micropipeta heparinizada debe dispensarse en el rotor reactivo **inmediatamente** después de la recolección de la muestra.
- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírela a un tubo de ensayo limpio⁷. Analice la muestra separada de plasma o suero en las 5 horas siguientes a la centrifugación. Si esto no es posible, refrigere la muestra en un tubo de ensayo tapado a 2-8°C (36-46°F) durante no más de 48 horas. Una muestra de plasma o suero puede almacenarse a -10°C (14°F) durante un máximo de 5 semanas en un congelador que no tiene un ciclo de autodescongelación.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador de sangre entera VetScan es heparina de litio.
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El analizador de sangre entera VetScan suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo de T4/colesterol VetScan

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico de sangre entera VetScan

Parámetros de prueba

El sistema VetScan opera a temperaturas ambientes entre 15°C y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada rotor reactivo T4/colesterol VetScan es de menos de 14 minutos. El analizador mantiene el rotor reactivo a una temperatura de 37° C (98,6° F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba

La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del usuario del sistema VetScan.

Calibrado

El analizador de sangre entera VetScan es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del rotor. Consulte el Manual del usuario del sistema VetScan.

Control de calidad

Pueden analizarse controles periódicamente en el analizador de sangre entera VetScan para verificar la exactitud del analizador. Abaxis recomienda analizar un control comercialmente disponible, basado en suero. Los controles deben analizarse en el rotor reactivo de la misma manera que las muestras de pacientes. Consulte el Manual del usuario del sistema VetScan para aprender cómo analizar los controles.

9. Resultados

El analizador de sangre entera VetScan calcula automáticamente e imprime las concentraciones de electrolitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del sistema VetScan.

Interpretación de resultados

Aumento de T₄

- Las concentraciones de T₄ tienden a ser superiores en los perros de menos de un año de edad, disminuyendo a medida que envejece el perro.
- Un aumento en el nivel de T₄ en un felino es un indicador fiable de hipertiroidismo. El hipertiroidismo es la causa más común de T₄ elevada y es una de las enfermedades diagnosticadas con mayor frecuencia en animales pequeños. La causa típica del hipertiroidismo espontáneo en los gatos es un adenoma tiroideo funcional. El hipertiroidismo es raramente observado en perros pero, cuando aparece, por lo general es indicativo de neoplasia o la administración de demasiada levotiroxina sódica a un perro hipotiroideo. Aproximadamente el 66% de los neoplasmas caninos son adenocarcinomas.

- Las pruebas tiroideas felinas por lo general se realizan para diagnosticar hipertiroidismo, para controlar los efectos del tratamiento antitiroideo o para controlar el tratamiento de reemplazo tiroideo después de la destrucción de las glándulas tiroideas neoplásicas. Al evaluar la T₄ total en gatos, se debe tener en cuenta la edad y las enfermedades concurrentes. Los valores de T₄ son mayores en los gatos más jóvenes y normalmente disminuyen con la edad. En gatos de mayor edad con sospecha de hipertiroidismo, las enfermedades concurrentes como insuficiencia renal causan una condición conocida como síndrome de enfermedad eutiroida, que puede deprimir los valores de la T₄ total. En estos casos, se utiliza una prueba de T₄ libre por diálisis de equilibrio (fT₄ED) para confirmar un diagnóstico de hipertiroidismo.
- Tres condiciones comunes requieren confirmación con la prueba fT₄ED. Los valores altos normales de T₄ (3-5 mg/dl) en un gato joven sin pérdida marcada de peso son normales. Los valores altos (>5 mg/dl) en un gato de mayor edad con señales de pérdida de peso es por lo general un diagnóstico de hipertiroidismo. Los valores altos normales (3-5 mg/dl) en un gato de mayor edad pueden indicar hipertiroidismo. Dado que estos valores pueden suprimirse por enfermedad concurrente, es necesaria una prueba para la hormona activa (fT₄ED) para diagnosticar este hipertiroidismo oculto.

Disminución de T₄

- En perros, el valor de T₄ total puede usarse para eliminar un diagnóstico de hipotiroidismo. Si la T₄ total se encuentra dentro del intervalo normal, es muy poco probable que el perro sea hipotiroideo. Un valor bajo o bajo normal de T₄ puede sugerir hipotiroidismo, sin confirmarlo, porque hay factores no tiroideos, tales como fármacos y enfermedad, que afectan la T₄. Un diagnóstico de hipotiroidismo en perros puede confirmarse por medio de una prueba de T₄ libre por diálisis de equilibrio (fT₄ED).
- Otras causas de una disminución de los niveles de T₄ pueden estar asociados con la terapia de fármacos y con el síndrome de enfermedad eutiroida. Los glucocorticoides son los fármacos más clínicamente relevantes que afectan los niveles de T₄. En el síndrome de enfermedad eutiroida, la disminución de los niveles de T₄ se observan con enfermedades no tiroideas, tales como insuficiencia renal aguda y crónica, diabetes mellitus, insuficiencia hepática y obesidad.
- Después de eliminar la terapia con fármacos y el síndrome de enfermedad eutiroida, la causa más común de la disminución de niveles de T₄ es el hipotiroidismo primario. El hipotiroidismo en perros es con más frecuencia un resultado de la tiroiditis linfocítica o de la atrofia idiopática. Los tumores tiroideos que hayan destruido más del 75% de la glándula tiroidea pueden causar señales clínicas de hipotiroidismo. Los defectos congénitos de la glándula pituitaria, la destrucción pituitaria y la supresión pituitaria pueden causar un hipotiroidismo secundario en los perros.
- Raras veces se informa de hipotiroidismo espontáneo en los gatos. Las causas comunes de hipotiroidismo felino son la tiroidectomía bilateral y las sobredosis de yodo radiactivo o fármacos antitiroideos en gatos hipertiroides.
- Los pacientes hipotiroideos también pueden tener concentraciones elevadas de colesterol.
- Para obtener una concentración basal exacta de T₄, debe suprimirse la administración de los medicamentos al paciente durante varios días.

Hipercolesterolemia

- Una dieta de alto contenido graso o una muestra de sangre recogida poco después de que el paciente haya comido puede causar hipercolesterolemia. La hipercolesterolemia no es aparente al realizarse un examen visual de la muestra dado que no causa lipemia.
- Una reducción en la actividad tiroidea causa una disminución en el catabolismo del colesterol, resultando en niveles elevados de colesterol. La observación de un elevado nivel de colesterol en un perfil de detección puede ser el primer indicador de hipotiroidismo. El colesterol, cuando se utiliza junto con los niveles de T₄ libre, es un buen indicador de hipotiroidismo canino.
- Un diagnóstico preliminar de hiperlipidemia puede hacerse usando los niveles de colesterol y el índice lipémico impreso en la tarjeta de resultados VetScan. Las concentraciones de colesterol mayores a 300 mg/dl junto con un índice lipémico de 2+ o 3+ pueden indicar hiperlipidemia en perros en ayunas. La hiperlipidemia felina puede diagnosticarse cuando se observan concentraciones de colesterol mayores a 200 mg/dl y un índice de 1+ o superior en gatos en ayunas.
- Los niveles bajos de colesterol por lo general no representan un problema. Se ha observado hipocolesterolemia en el caso de enteropatía con pérdida de proteína, algunas enfermedades hepáticas, ciertas malignidades y una malnutrición grave. Deben examinarse los resultados de las pruebas de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), globulina, bilirrubina total y proteína total, en caso de sospecharse enfermedad hepática. Pueden observarse bajos niveles de proteína, albúmina y globulina en casos de enteropatías con pérdida de proteína y malnutrición.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del usuario del sistema VetScan.

- Si un resultado para una prueba particular supera los valores del análisis, la muestra deberá analizarse por otro método de prueba homologada o enviarse a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador de sangre entera VetScan.
- Las muestras con hematocritos que excedan del 60% de volumen corpuscular de eritrocitos darán resultados inexactos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas y luego volver a analizar el plasma con un nuevo rotor reactivo.
- El método de T₄ de Abaxis es susceptible a interferencia por el autoanticuerpo a T₄. En los raros casos en que hay presencia de autoanticuerpo a T₄ en una muestra, los resultados de T₄ serán bajos.

Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema VetScan han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al rotor reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia establecidos. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo rotor reactivo.

11. Valores esperados

Los valores normales más definitivos son aquellos establecidos para su población de pacientes. Los resultados deben interpretarse conjuntamente con las señales clínicas del paciente.

Los animales deben estar en ayunas durante 12 horas antes de extraerse la muestra, de modo que las concentraciones de colesterol no queden influenciadas por una comida recientemente consumida.

Tabla 1: Intervalos de referencia caninos y felinos

Analito	Canino	Felino
Tiroxina (T ₄)	1,1 – 4,0 ug/dl (14,2 – 52,0 nmol/l)	1,5 – 4,8 ug/dl (19,4 – 61,9 nmol/l)
Colesterol	125 – 270 mg/dl (3,24 – 6,99 mmol/l)	90 – 205 mg/dl (2,33 – 5,31 mmol/l)

12. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el sistema VetScan se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del sistema VetScan). La tabla de intervalos dinámicos que aparece a continuación representa el espectro que puede detectar el sistema VetScan.

Tabla 2: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Intervalo dinámico Unidades comunes	Unidades SI
Tiroxina (T ₄)	0,5 – 8,0 ug/dl	(6,5 – 103,2 nmol/l)
Colesterol	20 – 520 mg/dl	0,5 – 8,4 mmol/l

Precisión

Los estudios de precisión fueron conducidos mediante las recomendaciones NCCLS EP5-A⁸, con modificaciones basadas en NCCLS EP18-P⁹ para equipos utilizados en unidad. Los resultados para los análisis intraserials y de precisión total fueron determinados evaluando controles de dos niveles. Los controles fueron analizados por duplicado, dos veces al día, a lo largo de un período de una semana.

Tabla 3: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Tiroxina (T₄) (ug/dl)	n=40		
<u>Control 1</u>			
Media		1,5	1,5
DE		0,15	0,19
% VR		9,6	12,5
<u>Control 2</u>			
Media		6,0	6,0
DE		0,32	0,33
% VR		5,3	5,4
Colesterol (mg/dl)	n=40		
<u>Control 1</u>			
Media		155,5	155,5
DE		3,96	4,0
% VR		2,5	2,6
<u>Control 2</u>			
Media		313,4	313,4
DE		9,7	9,7
% VR		3,10	3,10

Coefficiente

Fueron realizados estudios en terreno en un hospital de enseñanza de medicina veterinaria. El analizador de sangre entera VetScan y un método comparativo analizaron muestras de suero para el ensayo de tiroxina. En la tabla 4 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 4: Correlación del sistema VetScan con uno o más métodos comparativos

Tiroxina (ug/dl)	Canino	Felino
Coefficiente de correlación (r)	0,96	0,96
Pendiente	0,82	0,94
Intercepción	0,16	0,10
Límites de la muestra	0,5 – 7,1	1,2 – 8,3
n	40	42
Colesterol (mg/dl)	Canino	Felino
Coefficiente de correlación (r)	0,99	0,99
Pendiente	0,99	1,06
Intercepción	6	-3
Límites de la muestra	103 – 450	63 – 257
n	159	34

13. Bibliografía

1. Murphy BE, et al. Determinations of thyroxine utilizing the property of protein-binding. J Clin Endocrinol Metab. 1964;24:187-196.
2. Chen I-W, et al. Thyroxine: In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:956-959.
3. Kaplan LA, et al. Evaluation and comparison of radio-flourescence and enzyme-linked immunoassays for serum thyroxine. Clin Biochem. 1981;14:182-186.
4. Moller, et al. Isotope dilution-mass spectrometry of thyroxin proposed as a reference method. Clin Chem. 1983;29:2106-2110.
5. Norma, et al. Polarographic method for rapid micodetermination of cholesterol with cholesterol esterase and cholesterol oxidase. 1976; 22:336-340.
6. Allain, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. 1974; 20:472-475.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.